Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. Stepp.

STANFORD UNIV
JUN
1
1939
LIBRA

# Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung des Wachstums und des Glykogenstoffwechsels der weißen Ratte durch das isolierte $B_1$-Vitamin und das Laktoflavin.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Helmut Brünesholz

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.

1937

Referent: Prof. Dr. Stepp

Dekan: Prof. Dr. Kürten.

Mündliche Prüfung: 28. I. 1937.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München.

*Meinen lieben Eltern*
*in Dankbarkeit gewidmet!*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153302_0175

Sehr bald, nachdem die Existenz und Lebensnotwendigkeit von sogenannten akzessorischen Nährstoffen, von Funk später „Vitamine" genannt, sichergestellt war (Eijkman, Stepp, Hopkins), erkannte man auch die Beziehungen dieser Stoffe zu den fundamentalen Lebensvorgängen in der Zelle. Es zeigte sich dabei, daß die einzelnen Vitamine eine ganz spezielle Bedeutung für die verschiedenen Stoffwechselvorgänge haben können. So ist bekannt, daß der Mineralstoffwechsel entscheidend reguliert wird durch das Vitamin D. Andere Vitamine wirken im Organismus als Katalysatoren bei den verschiedensten Oxydationsprozessen und fermentativen Reaktionen. Vom Vitamin $B_1$, das keine allgemeine Stoffwechselwirkung besitzt, wissen wir, daß es den Kohlehydrat-Lipoid- und -Wasserhaushalt reguliert. Auch dem Antipellagrafaktor des $B_2$-Vitamins, dem Laktoflavin, das durch neueste Arbeiten (R. Kuhn, Györgyi) in seiner chemischen Konstitution aufgeklärt wurde und sich dabei (in Verbindung mit einem Eiweißkörper) als identisch mit dem Warburg'schen Oxydationsferment erwies, kommt sehr wahrscheinlich eine Bedeutung für den Kohlehydratstoffwechsel zu.

Schon im Jahre 1914 erkannte Funk, daß der Vitamin-B-Komplex eine besonders enge Beziehung zum Kohlehydratstoffwechsel habe, und daß es besonders die $B_1$-Komponente dieses Stoffes sei, die den Einfluß auf den Kohlehydrathaushalt ausübe. Er fand, daß vermehrte Kohlehydratzufuhr die Symptome der Beriberi-Erkrankung, dieser besonders wichtigen Erscheinung der $B_1$-Avitaminose, verstärkt, und daß neben einer Verminderung des Glykogens in der Leber der Blutzucker polyneuritischer Tauben erhöht ist. Diese Tatsache wurde von Hirai bestätigt und später dahin ergänzt, daß kurz vor dem Tode die Hyperglykämie in eine Hypoglykämie umschlägt. Sure, Thatcher und Walker beobachteten, daß das Leber- und Muskelglykogen bei der $B_1$-Avitaminose erheblich vermindert ist. Randoin, Simmonet stellten fest, daß mit dem Kohlehydratgehalt der Nahrung der Vitamin-$B_1$-Bedarf des Organismus steigt. — Inzwischen wurde durch viele Untersuchungen an den verschiedensten Tiergattungen die Behauptung, daß der Vitamin-B-Komplex enge Beziehungen zum Kohlehydratstoffwechsel besitze, weiter erhärtet.

Dabei machte man die bedeutungsvolle Beobachtung, daß die Wirkung des Fehlens des Vitamin-B-Komplexes nicht etwa einheit-

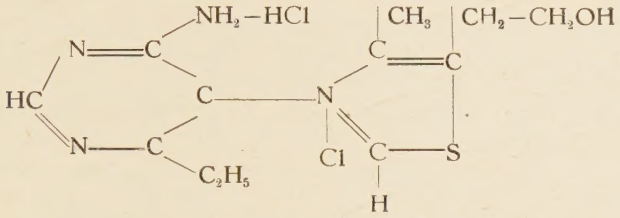
lich ist, sondern daß vielmehr der Mangel an Vitamin B in der Nahrung bei den verschiedenen Tiergattungen ganz verschiedene, ja geradezu entgegengesetzte Erscheinungen auslöst. — So fand Laird bei Benützung von Ratten und Tauben als Testtier, daß die beiden Tierarten nach Entzug des Vitamin-B-Komplexes in der Nahrung ganz verschieden auf Fütterung von vitamin-B-haltigen Präparaten reagierten. Cerkes kam zu dem gleichen Ergebnis und glaubte, daß die Diskrepanz der Resultate, die im Verlauf der B-Avitaminosen bei Tauben und Ratten erhalten wurde, durch die Verschiedenheit des Stoffwechsels der beiden Tierarten und durch ihren verschiedenen Bedarf an Vitaminen bedingt sei.

Für vorliegende Untersuchungen sind besonders die verschiedenen Arbeiten von Abderhalden und Wertheimer von Interesse, die sich mit dem Glykogengehalt von Leber und Herz der Tauben im Zustand der $B_1$-Avitaminose befassen. Diese beiden Autoren sahen nach vorübergehendem Sinken der Glykogenwerte in Herz und Leber eine starke Anhäufung von Glykogen im Verlauf der Avitaminose. Trotz starkem Abfall des Körpergewichtes und mangelhafter Ernährung bleibt im Gegensatz zu dem Verhalten bei Hungertieren viel Glykogen in den beiden genannten Geweben liegen. Die Glykogenanhäufung vollzieht sich im Lauf der Entwicklung der $B_1$-Avitaminose, um bei Ausbruch der Krämpfe ihr Maximum zu erreichen. Nach Zufuhr von Hefe fällt mit dem Verschwinden des Zustandes der $B_1$-Avitaminose der Glykogengehalt in der Leber und im Herzmuskel wieder ab.

In einer Reihe von Versuchen konnten neuerdings diese beiden Autoren feststellen, daß durch Zusatz von Kohlehydraten zu normaler Nahrung bei Tauben die typischen Erscheinungen der $B_1$-Avitaminose auftreten können. Weiter fanden sie, daß ein Zusatz von Hefe, der bei ausschließlicher Reisfütterung die B-avitaminotischen Symptome aufhebt, seine Wirkung verliert, sobald außer dem Reis große Mengen von Kohlehydraten zugeführt werden. — Diese engen Beziehungen des Kohlehydratstoffwechsels zu dem Vitamin $B_1$ beweist auch Cowgill durch die Feststellung, daß bei $B_1$-Mangel keine Beriberi-Symptome auftreten, wenn gleichzeitig die Kohlehydrate in der Nahrung fehlen.

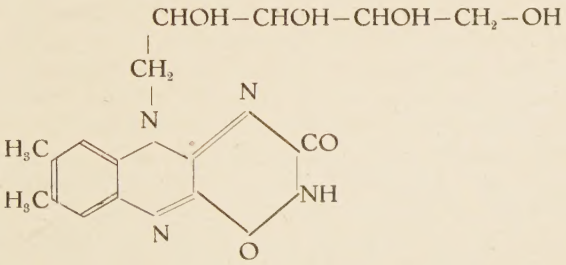
Alle bisherigen Untersuchungen über die Beziehungen des Vitamin-B-Komplexes oder dessen einzelnen Komponenten zum Kohlehydratstoffwechsel sind entweder mit Hefe oder mit mehr oder weniger gereinigten Vitaminkonzentraten durchgeführt worden. Erst in den letzten Jahren ist es den Forschungen der Chemie gelungen, das Vitamin $B_1$ und den Wachstumsfaktor des Vitamins $B_2$, auch $B_6$ genannt, zu isolieren und ihre chemische Konstitution aufzuklären.

Die Isolierung und Konstitutionsaufklärung des $B_1$-Vitamins, die erst in neuester Zeit gelang, verdanken wir besonders den Arbeiten von W i n d a u s und W i l l i a m s (1935). Als Summenformel wird $C_{12}H_{16}ON_4S \cdot 2\,HCl$ angegeben. Die Konstitutionsformel des in feinen Nadeln kristallisierenden Hydrochlorids ist sehr wahrscheinlich folgende:




Bei unseren Versuchen benutzten wir eine von der Firma Merck hergestellte Lösung des $B_1$-Chlorhydrats, die wir subkutan spritzten. Die Lösung wurde uns in Ampullen zu 1 ccm Inhalt = 1 mg Vitamin $B_1$ zur Verfügung gestellt. Wir verabreichten täglich 0,1 ccm Lösung, was $^1/_{10}$ mg Vitamin $B_1$ entspricht.

Die Erforschung und Reindarstellung des Laktoflavins gelang auch erst in letzter Zeit. Wir verdanken sie besonders den Untersuchungen von R. K u h n und P. G y ö r g y i. Nach ihren Feststellungen ist der Antipellagrafaktor des $B_2$-Vitamins ein in der Natur weitverbreiteter Farbstoff, der zu der Gruppe der Lyochrome gehört. Das Laktoflavin ist ein gelbgefärbter Stoff, der bei ca. 290° unter Zersetzung schmilzt. Seine Summenformel wird folgendermaßen angegeben: $C_{17}H_{20}N_4O_6$. Es ist ein 2,3-Dimethyl-9-tetraoxyanyl-isoalloxazin mit folgender Konstitutionsformel:




Die Identität des Laktoflavin mit dem Oxydationsferment von W a r b u r g macht es wahrscheinlich, daß das Laktoflavin einen bedeutenden Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel besitzt. Wir haben

daher mit Lösungen, die uns die I. G. Farbenindustrie zur Verfügung stellte, Untersuchungen über die Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels durch dieses Vitamin ausgeführt. Wir benutzten dabei Ampullen von 2 ccm Lösung = 1 mg Laktoflavin. Die Tiere erhielten täglich 0,1 ccm dieser Lösung verabreicht, was einer Menge von $^1/_{20}$ mg Laktoflavin entspricht.

Für das Verständnis der Störungen im Kohlehydrathaushalt bei der B-Avitaminose sind die bereits festgestellten Veränderungen im Glykogengehalt der verschiedenen Organe B-avitaminotischer Tiere von großer Wichtigkeit. Ein Vergleich der erwähnten Mitteilungen verschiedener Autoren über ihre Untersuchungen zeigt deutlich, daß sich die Ergebnisse vielfach nicht decken, ja geradezu widersprechen. Während z. B. Funk, Collazo, Ogata und Murata in den Geweben B-avitaminotischer Tauben fast kein Glykogen mehr fanden, stellten Abderhalden und Wertheimer fest, daß das Glykogen in der Leber von Tauben, die sich im Beginn des B-avitaminotischen Krampfstadiums befanden, einen sehr hohen Wert erreicht. Ebenso fanden sie im Herzmuskel im Verlauf der Mangelkrankheit eine starke Anhäufung von Glykogen. Lepkovsky, Evans und Wood fanden, daß die Glykose-Toleranz bei Ratten, die längere Zeit an Vitamin-B-Mangel gelitten haben, nicht wesentlich geringer ist als die der Kontrolltiere. Erst bei fortgeschrittener Avitaminose und Beriberikrankheit war diese Toleranz stärker herabgesetzt. Nach den Untersuchungen von Westenbrink kann per os verabreichte Glykose bei der B-Avitaminose von der Leber vollständig in Glykogen umgesetzt werden. Abderhalden und Wertheimer finden die Erklärung für die Anhäufung von Glykogen in den Geweben im Verlauf der Mangelkrankheit darin, daß der Kohlehydratumsatz bei der $B_1$-Avitaminose fast völlig aufgehoben ist. In den zuletzt veröffentlichten Arbeiten konnten die beiden Autoren mitteilen, daß die Zufuhr von Glukose bei B-frei ernährten Tauben den Eintritt der B-avitaminotischen Stadien beschleunigt, ja, daß die Darreichung der Glukose zu normaler Ernährung ausreichend ist, um die typischen Symptome einer B-Avitaminose hervorzurufen. — Randoin und Lecoq stellten fest, daß bei vollständigem Fehlen des Vitamin-B-Komplexes in der Nahrung und gleichzeitiger Zufuhr von verschiedenen Zuckern der Tod um so früher eintritt, je rascher das Kohlehydrat resorbiert wird bzw. je schwerer es zu Glykogen aufgebaut werden kann bzw. eine je stärkere Glykämie es verursacht.

Ueber die Bedeutung der einzelnen Komponenten des Vitamin-B-Komplexes für den Kohlehydrathaushalt liegen bis heute fast gar keine Ergebnisse vor. Abderhalden und Wertheimer

schließen aus ihren Versuchen, daß für das Absinken der Glykogenanhäufung im spastischen Stadium bei Reistauben sehr wahrscheinlich nur das Vitamin $B_1$ maßgebend ist. Dem steht die Ansicht von Collazo gegenüber, daß auch dem Vitamin $B_2$ eine Bedeutung für die Regulation des Kohlehydratstoffwechsels zukommt. Ueber die Rolle, die der Antipellagrafaktor des $B_2$-Vitamins, das Laktoflavin, im Kohlehydrathaushalt spielt, liegen bis heute noch keine Ergebnisse vor. Abderhalden fand in seiner zuletzt veröffentlichten Arbeit lediglich, daß das Laktoflavin bei Reistauben einen vorübergehenden Gewichtsanstieg hervorruft. Den bald wieder einsetzenden Gewichtsabfall und den nachfolgenden Tod infolge der Mangelkrankheit kann es jedoch allein nicht verhindern.

Nachdem uns nun das isolierte $B_1$-Vitamin von Merck und das Laktoflavin der I. G. Farbenindustrie zur Verfügung standen, haben wir in einer Reihe von tierexperimentellen Versuchen die Wirkung dieser beiden Stoffe auf den Kohlehydratstoffwechsel geprüft. Wir haben uns dabei die Beantwortung folgender Fragen zur Aufgabe gestellt:

1. Wie verläuft die Wachstumskurve B-avitaminotischer Ratten und wie verhalten sich die Glykogenwerte in Leber, Herz und Sklettmuskel dieser Tiere?
2. Vermögen die beiden Teilfaktoren des Vitamin-B-Komplexes, das $B_1$-Vitamin und das Laktoflavin, allein oder zusammen das Wachstum und den Glykogengehalt von Leber, Herz und Skelettmuskel der B-avitaminotischen Ratten zu beeinflussen?
3. a) Gelingt es, die Glukosetoleranz B-avitaminotischer Ratten durch das $B_1$-Vitamin, das Laktoflavin oder durch beide Teilfaktoren zusammen zu erhöhen?
   b) Vermag eine gleichzeitige Darreichung von Glukose die Wachstumswirkung der einzelnen B-Vitamine und den Glykogengehalt der Organe bei den B-avitaminotischen Tieren zu beeinflussen?

## Methodik:

Unsere Untersuchungen wurden in Anlehnung der Abderhalden'schen gemacht mit dem Unterschied, daß wir als Versuchstier die weiße Ratte verwandten, die nach Mc. Collum als Testtier der Taube überlegen ist. Die Tiere stammten sämtlich aus eigener Zucht, waren gleichaltrig und unter den gleichen Bedingungen in bezug auf Ernährung und Pflege aufgewachsen. Selbstverständlich trafen wir alle Vorkehrungen, um eine Refäktion durch die Tiere zu verhüten. Das Alter aller in den Versuch genommenen

Tiere betrug 7 Wochen. Unsere Tiere erhalten schon seit mehr als dreißig Generationen eine bestimmte Standarddiät, die sich sehr gut bewährt hat. Um eine Vergleichmöglichkeit zu besitzen, legten wir von mit dieser Diät ernährten Tieren eine Wachstumskurve an (siehe Wachstumskurve I, 1). Als vitamin-B-freie Nahrung benutzten wir die von Hofmeister angegebene Futtermischung von folgender Zusammensetzung:

50 Teile Reisstärke (vitaminfrei)
22 Teile Kasein (vitaminfrei)
5 Teile Salzgemisch (nach Osborne und Mendel)
10 Teile Lebertran
13 Teile Kokosfett.

Die Tiere wurden wöchentlich gewogen und und, sobald die B-frei ernährten Ratten neben dem Gewichtsverlust (s. Wachstumskurve I,2) die typischen Symptome der B-Avitaminose zeigten, wurde ihnen das Vitamin $B_1$, das Laktoflavin, sowie das Vitamin $B_1$ + Laktoflavin zusammen täglich subkutan gespritzt. Der Gewichtsverlust der B-frei ernährten Ratten setzte nach vorübergehendem leichtem Gewichtsanstieg ungefähr 10—16 Tage nach Entzug des Vitamin-B-Komplexes mit einem gleichmäßig steilen Abfall ein. Bei diesen Tieren beobachteten wir die bereits von Hofmeister beschriebenen typischen Symptome der B-Avitaminose:

1. Ein Entwicklungsstadium (Appetitverlust, Gewichtsabnahme),
2. Ein ataktisches Stadium (Gangstörungen),
3. Ein spastisches Stadium.

Zu Beginn des dritten Stadiums begannen wir gewöhnlich mit der Verabreichung der einzelnen Vitamine. Dabei trugen wir Sorge, eine Verunreinigung der isolierten B-Vitamine zu verhüten. Bei einigen Tieren jedoch setzten wir aus bestimmten Gründen mit der Darreichung der verschiedenen Teilfaktoren des Vitamin-B-Komplexes schon früher ein. Während der Verabfolgung der Vitamine wurde das Gewicht regelmäßig in gleichen Abständen bestimmt. Nach verschieden langer Behandlungszeit mit den Vitaminen wurden die Tiere getötet. Die Organe Herz, Leber und Skelettmuskel der getöteten Tiere wurden jedesmal auf ihren Glykogengehalt untersucht. Zur Glykogenbestimmung benutzten wir eine abgeänderte Methode von Barreba.

Das zu untersuchende Gewebe wurde den Tieren sofort nach dem Tode entnommen, mit Filtrierpapier abgetupft und sofort anschließend gewogen. Darauf wurden die Gewebsstückchen (ungefähr 0,5 g schwer) mit 2,5 ccm 60%iger KOH-Lösung angesetzt und 45 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dieser Zeit war das Gewebe zerstört und fein verteilt. Zur Hydrolyse des Glykogens ver-

wandten wir statt der vorgeschriebenen Salzsäure 35 ccm n/1 Schwefelsäure, da nach den Feststellungen von Lauersen in unserer Klinik diese Säure ebenfalls eine vollständige Hydrolyse herbeiführt und gegenüber der Salzsäure den Vorteil besitzt, daß sie nicht verflüchtigt. Die mit der Schwefelsäure versetzte Lösung erhitzten wir anstatt der vorgeschriebenen 3—5 Stunden zur hydrolytischen Spaltung des Glykogens genau 2½ Stunden auf dem Wasserbad, weil Lauersen im Zusammenhang mit anderen Versuchen beweisen konnte, daß nach dieser Zeit bereits eine vollkommene Hydrolyse erreicht ist und bei längerem Erhitzen die Gefahr einer weiteren Aufspaltung der reduzierenden Substanz besteht. Die Reaktionslösung wurde in einen Erlenmeyer-Kolben filtriert und das Filtrat mit n/1 NaOH gegen Lackmuspapier neutralisiert. Dann wurde die neutralisierte Lösung in einen Meßkolben mit Aqua dest. auf 50 ccm aufgefüllt und der Zucker in 1—4 ccm der Lösung je nach Menge des vorhandenen Glykogens nach Hagedorn-Jensen bestimmt. Der Glykogenwert wurde sodann durch Multiplikation des erhaltenen Zuckers mit dem Glykogenfaktor = 0,927 bestimmt und auf Prozent-Organgewicht berechnet.

Da nach Abderhalden und Wertheimer der Glykogengehalt der Leber und des Herzmuskels im Verlauf der $B_1$-Avitaminose bei den Tauben sehr starke Schwankungen zeigt, haben wir das Glykogen in den bereits erwähnten Organen einer Reihe B-frei ernährter Ratten in regelmäßigen Abständen vom ersten bis in das dritte Stadium der B-Avitaminose bestimmt.

### Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber normaler Ratten.

Aus einer ganzen Anzahl von Mitteilungen über den Glykogengehalt der weißen Ratte geht hervor, daß die Leber dieser Tiere ganz unterschiedliche Mengen von Glykogen enthalten kann. So erhielt Dittmar z. B. bei Untersuchungen an einer Reihe von Ratten in der Leber Glykogenwerte von 1,5—5 g %. Da wir bei den Tieren der hier beschriebenen Versuche, die eine gleiche Nahrung erhielten und von annähernd dem gleichen Alter, Gewicht und Allgemeinzustand waren, ziemlich übereinstimmende Werte erhielten, glauben wir, daß die von den anderen Autoren beschriebenen Unterschiede im Glykogengehalt der Leber hauptsächlich durch Verschiedenheit des Alters und der Ernährung der Tiere bedingt sind (s. Tabelle 1). Der Glykogengehalt der Leber betrug bei unseren mit Standarddiät ernährten Tieren etwas über 2 %, der des Herzmuskels 1,045 % und der des Skelettmuskels 0,927 %. Die Wachstumskurve dieser Tiere war ebenfalls sehr regelmäßig, sie nahmen wöchentlich 6—8 g zu.

## Glykogengehalt im Organismus von Ratten bei Fehlen des Vitamin-B-Komplexes in der Nahrung.

Es wurde bereits erwähnt, daß die vorliegenden Beobachtungen über das Verhalten des Glykogens im Organismus bei der B-Avitaminose sich sehr schwer vergleichen lassen wegen der deutlich hervorgetretenen Widersprüche. Uns interessierte besonders die von Abderhalden und Wertheimer bei Tauben beobachtete Abhängigkeit des Glykogengehaltes der Leber und des Herzmuskels von dem Grade der avitaminotischen Störungen. Wir haben daher bei einer größeren Anzahl von Ratten die Veränderungen des Glykogengehaltes der Organe während der verschiedenen Stadien der B-Avitaminose untersucht.

Wir begannen unsere Untersuchungen schon vor Beginn des Gewichtsabfalles und töteten die übrigen vitamin-B-frei ernährten Tiere zur Glykogenbestimmung in ziemlich regelmäßigen Abständen bis zum Beginn des spastischen Stadiums. Das Ergebnis dieser Untersuchungen zeigt Tabelle 2. Die angeführten Resultate zeigen, daß der Glykogengehalt des Skelettmuskels bei der ganzen Serie völlig konstant ist. Beim Herzmuskel zeigt sich erst zu Beginn des dritten Stadiums ein leichter Verlust an Glykogen. Dagegen nimmt das Glykogen in der Leber im Verlauf der B-Avitaminose gleichmäßig ab und erreicht nach 40 Tagen einen Wert, der etwa $^2/_5$ des normalen entspricht. Der Glykogenverlust kann jedoch sowohl durch den Mangel an Vitamin B verursacht sein als auch in dem Appetitverlust, der als führendes Symptom des ersten Stadiums der B-Avitaminose eintritt, und der dadurch bedingten verringerten Nahrungsaufnahme seine Ursache haben. Eine Entscheidung, welches von beiden Momenten als Ursache für den Glykogenverlust maßgebend ist, konnte jedoch mit unserer Untersuchungsmethode nicht getroffen werden. Während also Abderhalden und Wertheimer bei Reistauben im Verlauf der $B_1$-Avitaminose eine Glykogenanhäufung fanden, die zu Beginn der Krämpfe ihr Maximum erreichte, konnten wir bei Ratten unter den gleichen Bedingungen einen mit der B-Avitaminose stetig einhergehenden Glykogenabfall feststellen, der im dritten Stadium sein Minimum erreichte. Wie die Diskrepanz dieser Ergebnisse zu erklären ist, können wir mit Sicherheit nicht sagen. Wir verweisen auf die in der Einleitung beschriebene Mitteilung von Laird und Cerkes. Vielleicht findet die Verschiedenheit der Abderhalden'schen Ergebnisse von den unsrigen ihre Erklärung darin, daß es sich bei den Reistauben nur um eine $B_1$-Avitaminose handelt, während wir unseren Ratten den ganzen B-Komplex in der Nahrung entzogen haben. Allerdings konnten wir in der Einleitung aber auch eine Reihe von Autoren nennen, deren Unter-

suchungen an Reistauben mit unseren Ergebnissen sehr gut übereinstimmen.

### Beeinflussung von Gewichtskurve und Glykogengehalt von Herz, Muskel und Leber B-frei ernährter Ratten durch tägliche subcutane Verabreichung von:

1. *0,1 ccm* $B_1$.

Wir konnten bei den mit $B_1$ gespritzten Ratten feststellen, daß sowohl Tiere, bei denen der Gewichtsabfall gerade erst einsetzt, wie auch solche, die schon längere Zeit vitamin-B-frei ernährt wurden, auf die Verabreichung von Vitamin $B_1$ sofort mit einem Gewichtsanstieg reagieren (s. Wachstumskurve I,3). Der Glykogengehalt der Organe ist ebenfalls höher, wie ein Vergleich mit Ratten, die während der gleichen Zeitdauer B-vitaminfrei ernährt wurden, zeigt. Es ist fernerhin ersichtlich, daß der Glykogengehalt der Leber von der Dauer der $B_1$-Verabfolgung abhängig ist, während die Glykogenwerte von Herz und Muskel sehr konstant bleiben. Auch hierbei, wie bei allen folgenden Ergebnissen, können wir nicht entscheiden, ob der Glykogenanstieg durch einen der Teilfaktoren selbst oder infolge des durch die Verabfolgung wieder eingetretenen Appetits und der dadurch bedingten vermehrten Nahrungsaufnahme verursacht ist.

2. *0,1 ccm Laktoflavin.*

Wie bereits oben erwähnt, fanden Abderhalden und Wertheimer bei ihren Versuchen an Reistauben, daß die Verabreichung von Laktoflavin lediglich einen vorübergehenden Gewichtsanstieg bewirkt, den Tod der Tiere infolge der Mangelkrankheit jedoch nicht verhindern kann. Es verlief nur die Kurve des Gewichtsabfalles flacher als die der B-frei ernährten Tiere. Bei unseren B-frei ernährten Ratten konnten wir bald nach dem Spritzen von 0,1 ccm Laktoflavin täglich einen Gewichtsanstieg feststellen, der während der Dauer der Injektionen gleichmäßig in die Höhe. ging (s. Wachstumskurve I,4). Die Gewichtskurve verlief etwas steiler als die der mit $B_1$ gespritzten Tiere. Auch hier setzte der Gewichtsanstieg, gleichgültig, ob mit der Darreichung des Laktoflavin während des ersten oder dritten Stadiums begonnen wurde, sofort nach der Verabfolgung ein. Der Glykogengehalt der Organe erwies sich auch hier im Herz und Skelettmuskel als auffallend konstant. Das Leberglykogen dagegen blieb selbst bei längerer Darreichung von Laktoflavin etwas unterhalb der Norm (s. Tabelle 4).

3. *0,1 ccm $B_1$ + 0,1 ccm Laktoflavin.*

Bei diesen Untersuchungen konnte ein Antagonismus des Vitamin $B_1$ und Laktoflavin nicht festgestellt werden, ein Synergismus nur insoweit, als die Gewichtskurve der Tiere dieser Reihe etwas steiler war als die der vorher beschriebenen (s. Wachstumskurve I,5). Die Tiere nahmen sofort nach der Verabreichung der beiden Teilfaktoren des B-Komplexes zu. Der Glykogengehalt in den Organen zeigte keinen Unterschied von den bei Verabreichung von $B_1$ bzw. Laktoflavin beschriebenen Ergebnissen (s. Tabelle 5).

## Beeinflussung der Wirkung der isolierten B-Vitamine durch gleichzeitige Verabreichung von Glukose.

Abderhalden und Wertheimer, Randoin und Simmonet, Cowgill und andere haben bekanntlich festgestellt, daß der Vitamin-$B_1$-Bedarf von der im Organismus umgesetzten Kohlehydratmenge abhängig ist, und zwar steigt dieser Bedarf proportional dem verbrauchten Kohlehydrat. Lecoq fand, daß die für den Organismus erforderliche Menge von Vitamin B variiert je nach der Art der verabreichten Kohlehydrate. Diese Menge hängt ab von der Resorptionsgeschwindigkeit der betreffenden Kohlehydrate durch den Verdauungstrakt und der hierdurch erzeugten Hyperglykämie. In seiner letzten Arbeit teilte Abderhalden mit, daß bei Zusatz von Kohlehydraten zu normaler Nahrung bei Tauben B-avitaminotische Zustände entstehen. Anscheinend verlieren nach ihm die Tiere die Fähigkeit, Kohlehydrate zu assimilieren, sie wirken geradezu als Gift.

Wie aus den in der Einleitung erwähnten Mitteilungen ersichtlich ist, sind die Ergebnisse über die Verwertbarkeit der Glukose im B-avitaminotischen Zustand des Organismus sehr verschieden. Aber auch hier wurden die Untersuchungen fast stets mit dem gesamten Vitamin-B-Komplex vorgenommen, die Einwirkung der einzelnen Komponenten des B-Komplexes auf die Verwertbarkeit der Glukose jedoch kaum geprüft. Wir haben daher bei unseren B-frei ernährten Ratten in einer Reihe von Versuchen Untersuchungen über den Einfluß des $B_1$-Vitamins, des Laktoflavin und den beider Teilfaktoren zusammen auf die Gewichtskurve und den Glykogengehalt von Herz, Muskel und Leber bei gleichzeitiger peroraler Verabreichung von Glukose vorgenommen. Dabei konnten wir feststellen, daß die Zufütterung von recht großen Mengen von Glukose (2 ccm 50 %ige Dextrose täglich) den Gewichtsabfall vitamin-B-frei ernährter Ratten vorübergehend aufzuhalten vermag (s. Wachstumskurve II, 1). Der Glykogengehalt in den Organen dieser Tiere ist bei weitem

höher als der in den gleichen Organen von Ratten, die während der gleichen Zeitdauer vitamin-B-frei ernährt wurden (s. Tab. 6), ein Zeichen dafür, daß die Verwertbarkeit der Glukose bei diesen Tieren sicher nicht herabgesetzt ist.

Bei der gleichzeitigen Verabreichung von Vitamin $B_1$ und Glukose zeigte sich deutlich die Abhängigkeit des Vitamin-$B_1$-Bedarfes von der im Organismus der B-avitaminotischen Ratten umgesetzten Kohlenhydratmenge. Während bei den B-frei ernährten Ratten, die nur mit dem isolierten $B_1$-Vitamin gespritzt wurden, ein sofortiger gleichmäßiger Gewichtsanstieg einsetzte, zeigt das Gewicht der gleichzeitig mit Glukose gefütterten Tiere nur einen geringen Anstieg, der nach kurzer Zeit in einen unregelmäßigen Gewichtsabfall umschlägt (s. Wachstumskurve II, 2). Der Glykogengehalt zeigt in den Organen der Tiere beider Versuchsreihen jedoch keinen wesentlichen Unterschied (s. Tab. 7). Aus dieser Tatsache ist ersichtlich, daß der Glykogengehalt und das Körpergewicht B-avitaminotischer Ratten völlig unabhängig voneinander durch einen Stoff beeinflußt werden können.

Bei den B-avitaminotischen Ratten, die gleichzeitig Laktoflavin und Glukose erhielten, zeigte sich im Gegensatz zu den eben beschriebenen Tieren ein sofort einsetzender gleichmäßiger Gewichtsanstieg, der jedoch viel flacher verlief als der durch alleinige Verabfolgung von Laktoflavin entstandene (s. Wachstumskurve II, 3). Der Glykogengehalt von Muskel und Leber unterschied sich von dem der reinen Laktoflavintiere nicht, der Herzmuskel jedoch zeigte auffallend hohe Glykogenwerte (s. Tab. 8).

Auch bei den Tieren, die neben der Glukoselösung Vitamin-$B_1$ + Laktoflavin erhielten, setzte sofort ein deutlicher und gleichmäßiger Gewichtsanstieg ein. Dieser Gewichtsanstieg war steiler als der der eben beschriebenen Reihe. Die Tiere nahmen in 12 Tagen 12 g zu (s. Wachstumskurve II, 4). Der Glykogengehalt der Leber blieb noch ein wenig unter der Norm, der Glykogenwert für Skelett- und Herzmuskel jedoch war auffallend hoch (s. Tab. 9).

## Zusammenfassung.

Die Beantwortung der Fragen, die wir uns in den vorliegenden Versuchen gestellt hatten, brachte folgende Ergebnisse:

1. Während Abderhalden und Wertheimer bei Reistauben im Verlauf der $B_1$-Vitaminose eine Glykogenanhäufung fanden, konnten wir bei Ratten unter den gleichen Bedingungen einen mit der Entwicklung der B-Avitaminose gleichmäßig einhergehenden Glykogenabfall feststellen, der nach 40 Tagen noch einem Wert von etwa $^2/_5$ des normalen entspricht. Ein Unterschied bestand

darin, daß bei unseren Tieren der ganze B-Komplex in der Nahrung fehlte.

2. Bei der Verabreichung der isolierten Teilfaktoren des Vitamin-B-Komplexes ergab es sich, daß bei Ratten, denen der ganze Vitamin-B-Komplex in der Nahrung entzogen wurde, die beiden isolierten Komponenten dieser Gruppe allein die Symptome der B-Avitaminose aufheben können. Weiterhin zeigte sich die Tatsache, daß das Vitamin $B_1$ und das Laktoflavin allein einen sofortigen Gewichtsanstieg hervorrufen und den Glykogengehalt der Leber in kurzer Zeit beinahe bis zur Norm erhöhen können. Bei einer Kombination beider Teilfaktoren zeigte sich das gleiche Bild, lediglich die Gewichtskurve verlief etwas steiler. Der Glykogengehalt im Skelett- und Herzmuskel war bei den Tieren dieser Versuchsreihen sehr konstant.

3. Zuletzt untersuchten wir, ob es gelingt, die Glukosetoleranz B-avitaminotischer Ratten durch das $B_1$-Vitamin, das Laktoflavin oder durch eine Kombination beider Faktoren zu erhöhen. Dabei fanden wir, daß die Verwertbarkeit von Glukose bei B-frei ernährten Tieren nicht herabgesetzt ist, den Gewichtsrückgang dieser Tiere vermag die Glukose wenigstens vorübergehend aufzuhalten. Der Glykogengehalt in den Organen der B-frei ernährten Tiere wies nach Verabreichung von Glukose und Vitamin-$B_1$ keinen Unterschied gegenüber der eben beschriebenen Reihe auf. Das Gewicht dieser Tiere ging nur für kurze Zeit und in geringem Maße herauf.

   Bei gleichzeitiger Verabreichung von Laktoflavin und Glukose ergab es sich, daß der Glykogengehalt der Leber etwas unter der Norm bleibt, derjenige des Skelettmuskels konstant ist, während sich im Herzmuskel eine starke Anhäufung von Glykogen zeigt. Die Gewichtskurve dieser Tiere stieg sofort und deutlich an.

   Nach gleichzeitiger Zufütterung von Glukose und Vitamin-$B_1$ + Laktoflavin wies das Leberglykogen gegenüber der vorhergehenden Reihe keinen Unterschied auf, der Glykogengehalt des Herzmuskels und bei dieser Gruppe auch derjenige des Skelettmuskels jedoch zeigte eine deutliche sichtbare Erhöhung des Wertes. Nach diesen Ergebnissen scheint es, daß das Laktoflavin mit Glukose kombiniert für den Glykogenansatz im Skelett- und besonders im Herzmuskel eine wesentlich größere Bedeutung hat als das Vitamin $B_1$.

Zum Schluß bitten wir noch einmal bei allen Ergebnissen die Tatsache zu berücksichtigen, daß es mit unserer Untersuchungsmethode nicht möglich war, festzustellen, ob der Glykogenschwund bzw. Wiederanstieg in den Organen durch die

Teilfaktoren des Vitamin B selbst oder infolge des Appetitverlustes bzw. Wiedereintrittes und der hiervon abhängigen Nahrungsaufnahme verursacht wurde.

---

Nach Abschluß der Untersuchungen ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Hermann Schröder von der I. Med. Klinik meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen für die Richtlinien, die er mir zu Beginn der Untersuchungen gab, und seine wertvollen Ratschläge, die mir während meiner Arbeit stets wegweisend gewesen sind.

Tabelle 1.

*Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber von Ratten mit Standarddiät ernährt.*

| Nr. | Anfangs-gewicht | Gewicht am Tage des Tötens | Dauer der Standard-diät | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 206 | 104 g | 136 g | 41 Tg. | 1,117 | 1,137 | 2,108 |
| 219 | 86 g | 134 g | 41 Tg. | 0,820 | 0,893 | 1,722 |
| 218 | 79 g | 119 g | 42 Tg. | 1,022 | 1,046 | 2.270 |
| 220 | 78 g | 123 g | 42 Tg. | 0,748 | 1,104 | 1,945 |
| | | Durchschnitt: | | 0,927 | 1,045 | 2,011 |

Tabelle 2.

*Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber von Ratten nach B-vitaminfreier Ernährung.*

| Nr. | Anfangs-gewicht | Gewicht am Tage des Tötens | Dauer der B-vita-minfr. Ernährung | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 317 | 79 g | 88 g | 13 Tg. | 1,040 | 1,168 | 1,675 |
| 304 | 93 g | 104 g | 20 Tg. | 1,079 | 1,116 | 1,499 |
| 336 | 85 g | 89 g | 27 Tg. | 1,005 | 1,019 | 1,530 |
| 242 | 102 g | 80 g | 29 Tg. | 1,097 | 1,121 | 1,534 |
| 271 | 99 g | 80 g | 30 Tg. | 1,167 | 1,224 | 1,496 |
| 309 | 92 g | 81 g | 36 Tg. | 1,022 | 1,041 | 1,308 |
| 210 | 121 g | 85 g | 40 Tg. | 0,908 | 0,844 | 0,952 |
| 203 | 100 g | 70 g | 40 Tg. | 1,009 | 0,974 | 0,801 |
| | Durchschnittswerte der Ratten Nr. 210 und 203. | | | 0,958 | 0,909 | 0,876 |

Tabelle 3.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm $B_1$ täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gew. bei Beginn d. Zugabe von V. $B_1$ | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer der Zugabe von V. $B_1$ | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 277 | 43 Tg. | 95 g | 94 g | 115 g | 13 Tg. | 1,002 | 1,006 | 1,443 |
| 207 | 41 Tg. | 100 g | 72 g | 102 g | 25 Tg. | 1,065 | 1,103 | 1,702 |
| 334 | 12 Tg. | 85 g | 87 g | 95 g | 10 Tg. | 1,031 | 1,101 | 1,654 |
| 337 | 12 Tg. | 81 g | 84 g | 90 g | 10 Tg. | 1,084 | 1,108 | 1,696 |
| | | | Durchschnittswerte von Nr. 277 und 207: | | | 1,033 | 1,054 | 1,572 |
| | Glykogengehalt der Organe von Ratten, die ca. 40 Tage B-frei ernährt wurden: | | | | | 0,958 | 0,909 | 0,876 |

Tabelle 4.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm Laktoflavin täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gew. bei Beginn d. Zugabe v. Laktoflav. | Gewicht am Tage des Tötens | Dauer d. Zugabe von Laktoflav. | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 232 | 41 Tg. | 118 g | 87 g | 127 g | 22 Tg. | 1,030 | 1,021 | 1,533 |
| 245 | 41 Tg. | 115 g | 100 g | 138 g | 22 Tg. | 0,967 | 1,076 | 1,830 |
| 307 | 12 Tg. | 90 g | 94 g | 110 g | 8 Tg. | 1,221 | 1,041 | 1,600 |
| 318 | 12 Tg. | 86 g | 88 g | 96 g | 9 Tg. | 1,028 | 1,128 | 1,582 |
| | | | Durchschnittswert von Nr. 232 und 245: | | | 0,998 | 1,048 | 1,681 |
| | Glykogengehalt der Organe von Ratten, die ca. 40 Tage B-frei ernährt wurden: | | | | | 0,958 | 0,909 | 0,876 |

Tabelle 5.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm $B_1$ + 0,1 ccm Laktoflavin täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gew. bei Beginn d. Zugabe v V. $B_1$ + Laktofl. | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer d. Zugabe von V. $B_1$ + Laktofl. | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Hez | Leber |
| 246 | 41 Tg. | 149 g | 121 g | 146 g | 11 Tg. | 0,977 | 1,104 | 1,533 |
| 244 | 41 Tg. | 103 g | 86 g | 122 g | 16 Tg. | 0,963 | 0,979 | 1,654 |
| 233 | 41 Tg. | 96 g | 75 g | 107 g | 25 Tg. | 0.979 | 1,058 | 1,581 |
| | | | | Durchschnittswert: | | 0,973 | 1,047 | 1,589 |
| | | | | Glykogengehalt der Organe von Ratten, die ca. 40 Tage B-frei ernährt wurden: | | 0,909 | 0,958 | 0,876 |

Tabelle 6.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz u. Leber B-avitaminotischer Ratten nach peroraler Zufütterung von 2 ccm 50 %iger Glukose täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gewicht zu Beginn der Zufütterung von Glukose | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer der Zufütterung | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 270 | 30 Tg. | 93 g | 77 g | 77 g | 13 Tg. | 1,173 | 1,075 | 1,705 |
| 241 | 30 Tg. | 117 g | 104 g | 109 g | 13 Tg. | 1,124 | 1,092 | 1,570 |
| | | | | Durchschnittswert: | | 1,148 | 1,083 | 1,637 |
| | | | | Glykogengehalt der Organe von Ratten, die ca 40 Tage B frei ernährt wurden: | | 0.958 | 0.909 | 0,876 |

Tabelle 7.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm $B_1$ u. peroraler Zufütterung von 2 ccm 50%iger Glukose täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gewicht zu Beginn d. Zugabe von Glukose und V. $B_1$ | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer d. Zugabe von V. $B_1$ + Glukose | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 272 | 30 Tg. | 95 g | 84 g | 78 g | 24 Tg. | 1,109 | 1,092 | 1,637 |
| 314 | 30 Tg. | 82 g | 77 g | 73 g | 24 Tg. | 1,131 | 1,061 | 1,692 |
| | | | | Durchschnittswert: | | 1,120 | 1,076 | 1,664 |
| Glykogengehalt der Organe von Ratten, denen täglich 0,1 ccm $B_1$ verabreicht wurde: | | | | | | 1,033 | 1,054 | 1,572 |

Tabelle 8.

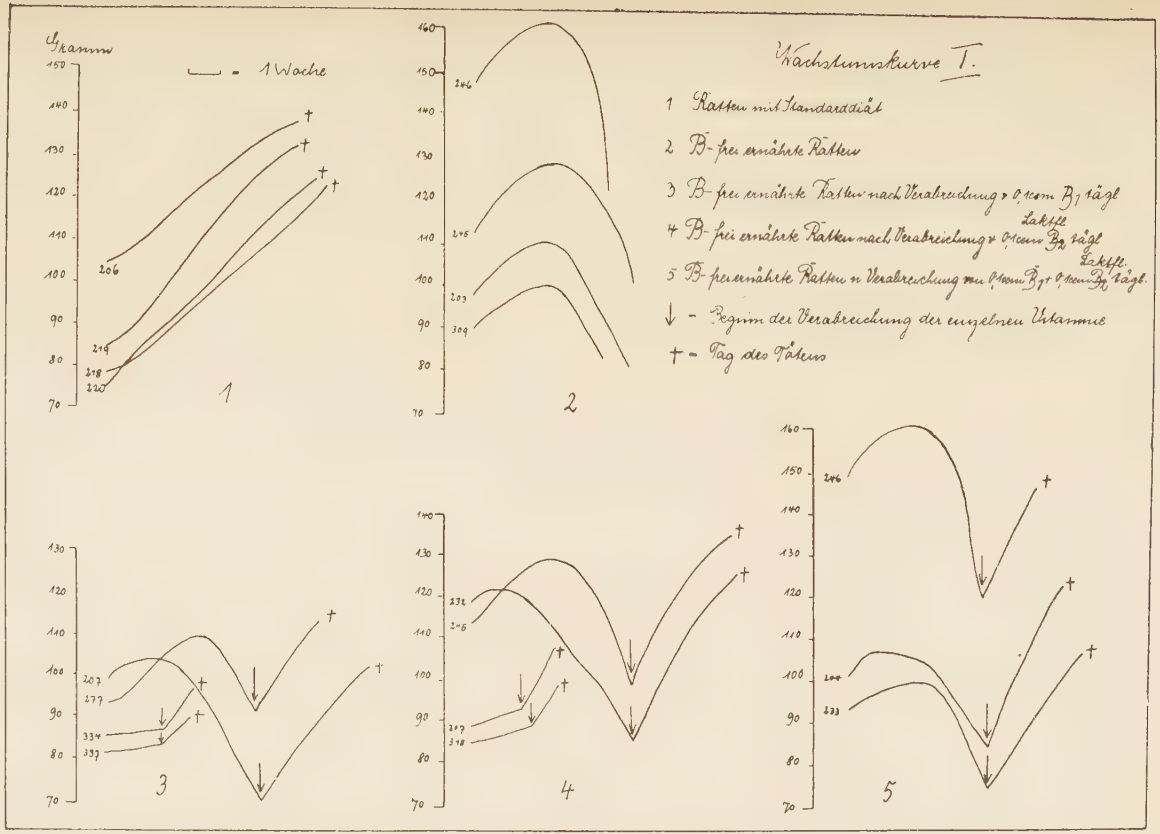
*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm Laktoflavin und peroraler Zufütterung von 2 ccm 50 %iger Glukose täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gewicht zu Beginn d. Zugabe von Laktofl. + Glukose | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer d. Zugabe v. Laktoflav. + Glukose | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 274 | 30 Tg. | 96 g | 91 g | 99 g | 12 Tg. | 1,095 | 1,224 | 1,685 |
| 335 | 30 Tg. | 88 g | 80 g | 88 g | 12 Tg. | 1,046 | 1,402 | 1,758 |
| | | | | Durchschnittswert: | | 1,070 | 1,313 | 1,721 |
| Glykogengehalt der Organe von Ratten, denen täglich 0,1 ccm Laktoflav. verabreicht wurde: | | | | | | 0,998 | 1,048 | 1,681 |

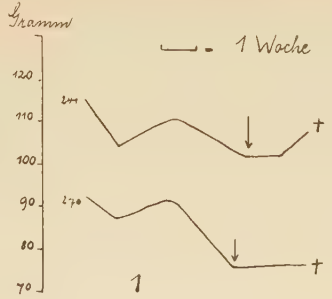
Tabelle 9.

*Beeinflussung von Körpergewicht und Glykogengehalt von Muskel, Herz und Leber B-avitaminotischer Ratten nach subcutaner Verabreichung von 0,1 ccm $B_1$ + 0,1 ccm Laktoflavin und peroraler Zufütterung von 2 ccm 50 %iger Glukose täglich.*

| Nr. | Dauer der B-vitaminfr. Ernährung | Anfangsgewicht | Gew. zu Beginn d. Zugabe v. V. $B_1$ + Lfl. und Glukose | Gewicht am Tage d. Tötens | Dauer d. Zugabe v. V. $B_1$ + Lfl. u. Glukose | Glykogen in % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Muskel | Herz | Leber |
| 269 | 32 Tg. | 98 g | 96 g | 108 g | 12 Tg. | 1,209 | 1 200 | 1,780 |
| 268 | 32 Tg. | 103 g | 121 g | 133 g | 12 Tg. | 1,200 | 1,150 | 1.950 |
| | | | | Durchschnittswert: | | 1 204 | 1,175 | 1,865 |
| Glykogengehalt der Organe von Ratten, denen täglich 0,1 ccm $B_1$ + 0,1 ccm Laktoflavin verabreicht wurde: | | | | | | 0,973 | 1,047 | 1,958 |


Wachstumskurve I.
1 Ratten mit Standarddiät
2 B-frei ernährte Ratten
3 B-frei ernährte Ratten nach Verabreichung v. 0,1 ccm Bj tägl
4 B-frei ernährte Ratten nach Verabreichung v. 0,1 ccm Bj täglich
5 B-frei ernährte Ratten n Verabreichung von 0,1 ccm Bj v. 0,1 ccm Bj täglich
↓ - Beginn der Verabreichung der einzelnen Urtamme
† - Tag des Todes
Gramm
1 Woche
1
2
3
4
5

## Wachstumskurve II.




1 B-frei ernährte Ratten nach Verabreichung von 2ccm Glukose täglich

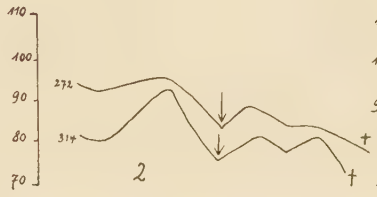
2 B-frei ernährte Ratten nach Verabreichung v. 2ccm Glukose + 0,1ccm $B_1$ täglich

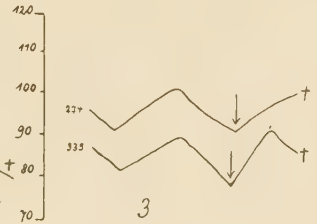
3 B-frei ernährte Ratten nach Verabreichung v. 2ccm Glukose + 0,1ccm $B_2$ (Lakto) täglich

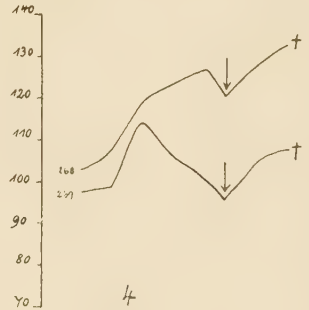
4 B-frei ernährte Ratten n. Verabreichung v. 2ccm Glukose + 0,1ccm $B_1$ + 0,1ccm $B_2$ (Lakto) täglich

↓ = Beginn der Verabreichung der einzelnen Vitamine

† = Tag des Todes



# Schrifttum.


Abderhalden: Pflügers Arch. 197, 105 (1922).
Abderhalden und Wertheimer, Pflügers Arch. 230, 601 (1932).
Barreda, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 178, H. 3.
Cerkes, Journal eksperimentalnoj biologii i. mediciny Jg. 1925, Nr. 1. S. 97—110.
Collazo, Biochem. Zschr. 1931, 328, 335—350. Biochem. Zschr. 1923, 136, 20. Rev. med. Barcelona 15, 105 (1931).
Mc Collum, Journ. Am. Med. Assoc. 1932, 98, 2201.
Cowgill, Internat. Clin. 1934, 4, Ser. 44, 54.
Dittmar, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 71, S. 496.
Funk und Schönborn, J. of Physiol. 48, 328 (1914).
Hirai, zit. nach Mc Collum.
Kuhn und Györgyi, Ber. dtsch. Chem. Ges. 66, 317, 576, 1034, 1298, 1577 (1933).
Laird: Amer. J. of Hyg. Bd. 6, Nr. 2, 201—210. 1926.
Lepkowsky, Wood und Evans, Journ. of biol. Chem. 87. 239—250, 1930.
Murata, Trans. jap. path. Soc. 16, 200—202 (1928).
Ogata, Jap. med. World, 1922, nach Collazo.
Randoin und Lecoq, Cpt. rend. hebd. d. seances de l'acad. des sciences, Bd. 184, Nr. 22, S. 1347—49, 1927.
Randoin und Simmonet, Bull. de la soc. scient. d'hyg. aliment. Bd. 14, No. 5, S. 217—243. 1926.
Stepp, Neue deutsche Klinik, 1933. Frankfurter wissenschaftliche Woche, 1935.
Sure, Thatcher und Walker, Arch. Path. 1933, 16, 809.
Warburg, Biochem. Zschr. 254, 438. 1932.
Westenbrink, Arch. nerl. Physiol. 18, 429—445, 1933.
Williams, Giorn. Clin. med. 1935, 16, 1023.
Windaus, Hoppe Seyler's Zschr. 204, 123 (1932).

## Lebenslauf.

Am 21. September 1910 wurde ich als Sohn des Volksschullehrers Heinrich Brünesholz und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Bolley in Ludwigsthal/Saar geboren. Dort sowie in Homburg/Saar besuchte ich die Volksschule vom 6. bis 11. Lebensjahr und trat 1922 in das humanistische Gymnasium in Homburg ein, das ich bis zur 4. Klasse besuchte. Ostern 1931 bestand ich an der gleichen Anstalt, die inzwischen zu einem Reformgymnasium umgewandelt worden war, die Reifeprüfung. Im Sommersemester 1931 begann ich in München mit dem Studium der Medizin und bestand dortselbst Ende Sommer 1933 die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester studierte ich mit Ausnahme des 7. Semesters, welches ich in Heidelberg verbrachte, in München. Hier bestand ich am 15. Dezember 1936 das medizinische Staatsexamen.